

基于主成分分析和判别分析对花鹿茸和马鹿茸 9 类化学成分对比研究

刘松鑫^{1,2}, 宫瑞泽¹, 王泽帅¹, 张磊¹, 刘畅¹, 陆雨顺¹, 孙印石^{1*}

1. 中国农业科学院特产研究所, 吉林 长春 130112

2. 吉林农业大学中药材学院, 吉林 长春 130118

摘要: **目的** 为研究花鹿茸和马鹿茸化学成分的差异, 以多种化学成分为指标综合评价花鹿茸和马鹿茸的品质, 并通过判别分析试图寻找以化学成分为指标区分花鹿茸和马鹿茸的简单有效的方法。 **方法** 采用多种分析技术方法, 测定并比较了花鹿茸、马鹿茸中多糖、粗蛋白、胶原蛋白、硫酸软骨素、氨基酸、脂肪酸、矿物质、生物胺、核苷 9 类化学成分的含量差异, 并用 SPSS 24.0 进行主成分分析 (principal component analysis, PCA) 和判别分析。 **结果** 多糖、粗蛋白、氨基酸、胶原蛋白、脂肪酸、矿物质、核苷、硫酸软骨素和生物胺在花鹿茸中质量分数分别为 9.51、518.58、527.74、223.12、13.28、138.36、2.51、2.12 mg/g 和 70.75 mg/kg; 在马鹿茸中质量分数分别为 8.61、669.39、594.84、258.91、9.20、82.62、1.22、1.96 mg/g 和 136.02 mg/kg。 PCA 结果显示花鹿茸的综合得分高于马鹿茸。 **结论** 分别以 9 类化学成分总量、17 种氨基酸、37 种脂肪酸、10 种生物胺、13 种核苷为变量, 通过判别分析建立的判别函数可将花鹿茸和马鹿茸进行分类, 说明以化学成分作为变量区分花鹿茸和马鹿茸具有一定的可行性, 可为今后花鹿茸和马鹿茸质量标准体系的建立提供参考。

关键词: 花鹿茸; 马鹿茸; 化学成分; 主成分分析; 判别分析; 多糖; 粗蛋白; 胶原蛋白; 硫酸软骨素; 氨基酸; 脂肪酸; 矿物质; 生物胺; 核苷

中图分类号: R284.2

文献标志码: A

文章编号: 0253-2670(2021)01-0082-09

DOI: 10.7501/j.issn.0253-2670.2021.01.011

Comparative study on chemical components of *Cervus nippon* and *Cervus elaphus* based on principal component analysis and discriminant analysis

LIU Song-xin^{1,2}, GONG Rui-ze¹, WANG Ze-shuai¹, ZHANG Lei¹, LIU Chang¹, LU Yu-shun¹, SUN Yin-shi¹

1. Institute of Special Animal and Plant Sciences, China Academy of Agricultural Sciences, Changchun 130112, China

2. College of Chinese Medicinal Materials, Jilin Agricultural University, Changchun 130118, China

Abstract: Objective In order to study the differences in chemical constituents, evaluate the quality with multiple chemical components as indicators, and find a simple and effective method to distinguish the antlers from sika deer (*Cervus nippon*) and red deer (*Cervus elaphus*). **Methods** A variety of analytical techniques were used to determine and compare the polysaccharides, crude protein, collagen, chondroitin sulfate, amino acids, fatty acids, mineral elements, biogenic amines, nucleosides of *C. nippon* and *C. elaphus*. And SPSS 24.0 was used for principal component analysis (PCA) and discriminant analysis. **Results** The results showed that the content of polysaccharide, crude protein, amino acid, collagen, fatty acid, mineral element, nucleoside, chondroitin sulfate, and biogenic amine in *C. nippon* was 9.51, 518.58, 527.74, 223.12, 13.28, 138.36, 2.51, 2.12 mg/g and 70.75 mg/kg; The content in *C. elaphus* was 8.61, 669.39, 594.84, 258.91, 9.20, 82.62, 1.22, 1.96 mg/g and 136.02 mg/kg. The results of PCA showed that the score of *C. nippon* was higher than that of *C. elaphus*. **Conclusion** In this experiment, the discriminant functions established by 9 chemical components, 17 amino acids, 37 fatty acids, 10 biogenic amines, and 13 nucleosides can classify *C. nippon* and *C. elaphus*, indicating that chemical components can be used to distinguish the *C. nippon* and *C. elaphus* by discriminant analysis. This study provides a reference for the establishment of quality standards system of *C. nippon* and *C. elaphus* in the future.

收稿日期: 2020-08-17

基金项目: 国家重点研发计划 (2018YFC1706604); 国家重点研发计划 (2018YFC1706605); 中国农业科学院科技创新工程项目 (CAAS-ASTIP-2016-ISAPS); 吉林省科技发展规划项目 (20180201076YY); 吉林省科技发展规划项目 (20170309002YY)

作者简介: 刘松鑫, 硕士研究生, 研究方向为鹿茸质量评价与药理活性研究。Tel: 15666939525 E-mail: liusx2018@163.com

*通信作者: 孙印石, 博士, 研究员, 研究方向为特种动植物贮藏加工与产品研发。Tel: 17790062198 E-mail: sunyinshi2015@163.com

Key words: *Cervus nippon* Temminck; *Cervus elaphus* Linnaeus; chemical composition; principal component analysis; discriminant analysis; polysaccharides; crude protein; collagen; chondroitin sulfate; amino acids; fatty acids; mineral elements; biogenic amines; nucleosides

鹿茸 *Cervi Cornu Pantotrichum* 来源于鹿科鹿属动物梅花鹿 *Cervus nippon* Temminck 或马鹿 *C. elaphus* Linnaeus 的雄鹿未骨化密生茸毛的幼角,前者习称“花鹿茸”,后者习称“马鹿茸”,具有壮肾阳、强筋骨、益精血、调充任、托疮毒的功效^[1]。鹿茸是“东北三宝”之一,是临床广泛使用的补益类贵细中药。现代研究表明,鹿茸富含多糖、氨基酸、蛋白质、核苷、甾体激素等生物活性物质^[2-3]。虽然鹿茸具有较为广泛的药理作用,但遗憾的是科学家们一直没有找到鹿茸专属化学成分或有效成分,使得鹿茸在种源鉴别和质量评价方面进展缓慢。在《中国药典》2020 年版和各级标准中,鹿茸项下无含量测定项或仅以外观性状为依据进行品质等级划分^[4-6]。鹿茸质量评价指标缺失,专属性差等问题进一步加剧了我国鹿茸市场的混乱局面,因此加快鹿茸质量控制成分筛查及标准化体系建设已成为当务之急。

主成分分析(principal component analysis, PCA)、判别分析(discriminant analysis)等在综合评价多成分时有广泛应用^[7-9]。近年来人们应用多元统计分析对鹿茸品质进行综合评价时开展了大量探索,但是大多数文章检测项目单一、简单,例如以 6 种核苷类成分为指标的鹿茸品质评价^[10];以水分、灰分、浸出物等常规检测项和其他 2~3 类化学成分为指标的鹿茸品质评价^[11-13];以氨基酸、多糖、核苷等几种化学成分为指标的鹿茸品质评价^[14-15]等。在实际应用中,鹿茸规格繁多、营养成分差异较大,检测一种或几种活性成分均不能充分体现鹿茸的整体药用价值^[16],因此不能全面系统地评价鹿茸质量。基于此,本研究测定了鹿茸中含量较高、检测方法成熟、功能明确的 9 类化学成分(多糖、粗蛋白、氨基酸、胶原蛋白、脂肪酸、矿质元素、核苷、硫酸软骨素、生物胺),初步分析了它们在 2 种鹿茸中的含量差异,为鹿茸质量标准体系的建立提供参考。

1 试验材料

1.1 样品

梅花鹿茸和马鹿茸(均为三岔茸)各 5 副,购自吉林省左家镇,样品经中国农业科学院特产研究

所孙印石研究员鉴定分别为梅花鹿 *C. nippon* Temminck 三杈茸(简称花鹿茸)、马鹿 *C. elaphus* Linnaeus 三杈茸(简称马鹿茸)。所有鹿茸样品均按照《中国药典》2020 年版方法切片、烘干、粉碎,过 80 目筛,备用。

1.2 仪器与设备

Acquity UPLC H-Class 超高效液相色谱仪,美国 Waters 公司; Thermo Scientific ISQ 气质联用仪,美国 Thermo Fisher Scientific 公司; NDA701 杜马斯快速定氮仪,意大利 VELP 公司; 752N 紫外-可见分光光度计,上海仪电分析仪器有限公司; 7890 A 气相色谱仪,美国 Agilent 公司; L-8900 全自动氨基酸分析仪,日本 Hitachi 公司; NexION 350X 电感耦合等离子体质谱仪,美国 PerkinElmer 公司; ZEE nit700 原子吸收光谱仪,德国 Analytik Jena AG 公司。

1.3 试剂

37 种脂肪酸甲酯混标, 10 g/L, 上海安谱实验科技股份有限公司,批号 Q6770087; 铜、锌、锰、铁、镍、钴、铬、镉、铅、钾、钙、钠、镁、砷、汞单元素标准储备液, 1 000 µg/L, 国家有色金属及电子材料分析测试中心; D-无水葡萄糖(批号 S08J6G1)、D-葡萄糖醛酸(批号 K14J7S9017)、D-甘露糖(批号 C25D8H51117)、D-盐酸氨基葡萄糖(批号 S27M7I15344)、D-盐酸氨基半乳糖(批号 H05M7X14253)、D-核糖(批号 J03D7R26100)、D-半乳糖(批号 Z22J9H64187)、D-半乳糖醛酸(批号 S03A9I67246)均购自上海源叶生物科技有限公司,质量分数均≥98%; 鸟苷(批号 AJ0609NA14)、2'-脱氧鸟苷(批号 N07A7W12580)、尿嘧啶(批号 TM0313XB13)、胞嘧啶(批号 TN1128XA13)、鸟嘌呤(批号 KM0522CA14)、次黄嘌呤(批号 TM0313XC13)、腺嘌呤(批号 X18N6M6005)、尿苷(批号 TM0313XA13)、胸腺嘧啶(批号 140708-200401)、肌苷(批号 TJ0623XA13)、腺苷(批号 KM0529CA14)、黄嘌呤(批号 AJ0722MA14)、β-胸苷(批号 DN1122WB13)均购自上海源叶生物科技有限公司,质量分数均≥98%; 色胺(批号 KM0522YB14)、酪胺盐酸(批号 XJ0704XA14)、

2-苯乙胺(批号 T28M6C1)、亚精胺(批号 A29M7L12090)、腐胺(批号 L05D6S7162)、组胺(批号 Y12A8J41698)、5-羟色胺盐酸盐(批号 B01022DA14)、尸胺二盐酸盐(批号 P1069349)、多巴胺盐酸盐(批号 S05J6G2)、精胺(批号 B10D7L26660)均购自上海源叶生物科技有限公司,质量分数均 $\geq 98\%$; H 型氨基酸混合标准液,日本 Woke 公司;苯基-3-甲基-5-吡唑啉酮(PMP),分析纯,上海源叶生物科技有限公司,批号 BCBP1770V;三氟乙酸,色谱纯,美国 Thermo Fisher Scientific 公司;硫酸软骨素标准品(批号 X02N7H23970)、硫酸软骨素 ABC 酶(5 U,批号 S28J8I38812),均购自上海源叶生物科技有限公司;无水乙醇、氯化钠、盐酸、石油醚、氢氧化钠、醋酸钠、硫酸、乙腈、冰乙酸、三氯甲烷等均为北京化工厂生产。

2 方法

2.1 多糖及单糖组成的测定

多糖及单糖组成的测定方法参考宫瑞泽等^[17]的测定方法。称取鹿茸样品 1.0 g,脱脂后加入 10 mL 超纯水超声提取,经 Sevag 法除蛋白后加入无水乙醇,收集沉淀,用硫酸-苯酚法测定多糖含量。称取多糖样品 2 mg,依次加入盐酸-甲醇溶液、三氟乙酸溶液,分别在 80 °C 水解 16 h、120 °C 水解 1 h。向水解后的多糖样品中加入 PMP 溶液和 NaOH 溶液,70 °C 水浴 30 min,上清液过 0.22 μm 滤膜,经 UPLC 测定单糖含量。

2.2 粗蛋白的测定

粗蛋白的测定方法参考王燕华等^[18]的测定方法。用杜马斯快速定氮仪测定鹿茸中粗蛋白含量。

2.3 胶原蛋白的测定

胶原蛋白的测定方法参考宫瑞泽等^[19]的测定方法。用全自动氨基酸分析仪测定鹿茸中羟脯氨酸含量乘系数 10 进而计算出胶原蛋白含量。

2.4 硫酸软骨素的测定

硫酸软骨素的测定参考刘松鑫等^[20]的方法。称取鹿茸样品 50 mg,加硫酸软骨素 ABC 酶,37 °C 水浴反应 1.5 h,灭活后过 0.22 μm 滤膜,用 UPLC 检测鹿茸中硫酸软骨素含量。

2.5 氨基酸的测定

氨基酸的测定方法参考王燕华等^[18]的测定方法。用全自动氨基酸分析仪测定鹿茸中氨基酸含量。

2.6 脂肪酸的测定

脂肪酸的测定参考刘松鑫等^[20]的方法。称取鹿

茸样品 5.0 g,加入 10 mL 盐酸 70 °C 水解 40 min,用乙醚-石油醚混合液提取,将提取液浓缩蒸发,加入氢氧化钠甲醇溶液,80 °C 水浴直至油滴消失,再加入三氟化硼甲醇溶液,80 °C 水浴 2 min,用正庚烷提取脂肪酸于进样瓶中,采用 GC-MS 测定脂肪酸含量。

2.7 矿质元素的测定

无机元素的测定参考王燕华等^[21]的测定方法。K、Ca、Na、Fe 用原子吸收光谱法测定;P 用紫外分光光度法测定;As、Hg、Mg、Cu、Zn、Mn、Ni、Co、Cr、Cd、Pb 用 ICP-MS 测定。

2.8 生物胺的测定

生物胺的测定参考王燕华等^[22]的测定方法。称取鹿茸样品 0.2 g,加入高氯酸提取后用丹磺酰氯衍生,用乙腈萃取目标物,过 0.22 μm 滤膜,用 UPLC 测定其生物胺含量。

2.9 核苷的测定

核苷的测定参考孙印石等^[23]的测定方法。称取鹿茸样品 0.1 g,加蒸馏水超声提取,上清液过 0.22 μm 水系滤膜,用 UPLC 测定其核苷含量。

3 结果

3.1 多糖及单糖组成的测定

现代研究表明鹿茸多糖具有提高免疫力^[24]、抗氧化^[25]、抗骨质疏松^[26]等药理活性,是鹿茸中活性物质之一。本实验采用浓硫酸-苯酚法测定 2 种鹿茸中多糖含量,结果见表 1。花鹿茸、马鹿茸多糖质量分数分别为 (9.51 ± 1.07) 、 (8.61 ± 2.13) mg/g,花鹿茸多糖含量高于马鹿茸,但差异不显著。

为了比较不同鹿源鹿茸多糖中单糖组成的差异,本实验用 UPLC 测定了花鹿茸、马鹿茸多糖中 8 种单糖含量,结果见表 2。花鹿茸和马鹿茸多糖中单糖含量有差异。花鹿茸中甘露糖、盐酸氨基葡萄糖、葡萄糖醛酸、盐酸氨基半乳糖、半乳糖含量均高于马鹿茸;马鹿茸中核糖、葡萄糖含量均高于花鹿茸。此外,2 种鹿茸中盐酸氨基葡萄糖含量均为最高,占 8 种单糖总量的 25%以上,其中花鹿茸盐酸氨基葡萄糖是马鹿茸的 1.81 倍。

3.2 粗蛋白的测定

鹿茸中蛋白质含量丰富,王燕华等^[18]研究表明鹿茸不同部位粗蛋白质量分数在 56.60%~82.94%,且呈现出由尖端向基部递减的趋势。本实验采用杜马斯定氮仪测定花鹿茸和马鹿茸中粗蛋白含量,结果见表 1。花鹿茸、马鹿茸粗蛋白质量分数分别为

表 1 花鹿茸和马鹿茸中多糖、粗蛋白、胶原蛋白、硫酸软骨素质量分数 ($\bar{x} \pm s, n = 5$)Table 1 Content of polysaccharide, crude protein, collagen, chondroitin sulfate of *Cervus nippon* and *Cervus elaphus* ($\bar{x} \pm s, n = 5$)

种类	质量分数/(mg·g ⁻¹)			
	多糖	粗蛋白	胶原蛋白	硫酸软骨素
花鹿茸	9.51±1.07	518.58±13.27	223.12±1.12	2.12±0.21
马鹿茸	8.61±2.13	669.39±7.06*	258.91±1.99*	1.96±0.12

与花鹿茸比较: * $P < 0.05$, 下同* $P < 0.05$ vs the antlers of sika deer (*C. nippon* Temminck), same as below表 2 花鹿茸和马鹿茸多糖中单糖组成 ($\bar{x} \pm s, n = 5$)Table 2 Monosaccharide content of *C. nippon* and *C. elaphus* ($\bar{x} \pm s, n = 5$)

种类	质量分数/(mg·g ⁻¹)							
	甘露糖	盐酸氨基葡萄糖	核糖	葡萄糖醛酸	半乳糖醛酸	盐酸氨基半乳糖	葡萄糖	半乳糖
花鹿茸	31.59±3.71	72.16±11.18	—	8.13±1.84	—	50.56±3.29	28.88±7.10	25.79±7.67
马鹿茸	15.58±0.64*	39.83±3.68*	4.00±0.79*	5.86±1.37	—	25.37±0.64*	31.32±4.84	22.59±4.94

(518.58±13.27)、(669.39±7.06) mg/g, 马鹿茸粗蛋白含量显著高于花鹿茸 ($P < 0.05$)。

3.3 胶原蛋白的测定

胶原蛋白是动物组织中含有最多的功能性蛋白, 在鹿茸中含量也很丰富。宫瑞泽等^[19]研究表明经炮制加工后的鹿茸胶原蛋白质量分数在 36.47%~42.24%, 且不同加工方式的鹿茸胶原蛋白含量有差异。本实验用氨基酸自动分析仪测定不同鹿源鹿茸中羟脯氨酸含量, 进而换算成胶原蛋白含量, 结果如表 1 所示。胶原蛋白含量最高的是马鹿茸, 为 (258.91±1.99) mg/g, 其次是花鹿茸, 质量分数为 (223.12±1.12) mg/g, 差异显著 ($P < 0.05$)。

3.4 硫酸软骨素的测定

硫酸软骨素是广泛存在于高等动物软骨组织中的酸性粘多糖。宫瑞泽等^[27]研究表明不同加工方式及不同部位鹿茸中硫酸软骨素的质量分数在 0.07~

14.13 mg/g, 且不同加工方式及不同部位鹿茸含量有差异。本实验采用酶解法测定不同形态梅花鹿鹿茸硫酸软骨素含量, 结果见表 1。花鹿茸、马鹿茸中硫酸软骨素的质量分数分别为 (2.12±0.21)、(1.96±0.12) mg/g, 含量顺序为马鹿茸>花鹿茸, 差异不显著。

3.5 氨基酸的测定

鹿茸中氨基酸含量丰富, 赵磊等^[28]研究表明花鹿茸、马鹿茸、麋鹿茸和驯鹿茸中氨基酸总量在 30%~50%。本实验采用氨基酸自动分析仪对花鹿茸和马鹿茸氨基酸含量进行测定, 结果见表 3。花鹿茸、马鹿茸中 17 种氨基酸总量分别为 (527.74±1.27)、(594.84±9.31) mg/g, 含量顺序为马鹿茸>花鹿茸, 差异显著 ($P < 0.05$)。

2 种鹿茸中氨基酸种类相同, 均包含 17 种氨基酸, 质量分数在 0.15%~9.17%。其中含量最高为甘

表 3 花鹿茸和马鹿茸中氨基酸含量 ($\bar{x} \pm s, n = 5$)Table 3 Amino acid content of *C. nippon* and *C. elaphus* ($\bar{x} \pm s, n = 5$)

种类	质量分数/(mg·g ⁻¹)								
	天冬氨酸	苏氨酸	丝氨酸	谷氨酸	甘氨酸	丙氨酸	半胱氨酸	缬氨酸	蛋氨酸
花鹿茸	45.55±0.14	22.20±0.02	23.51±0.02	63.22±0.05	72.43±0.24	44.39±0.12	3.76±0.01	28.12±0.02	1.86±0.00
马鹿茸	49.28±0.74	23.62±0.36	27.32±0.42*	73.80±1.11*	91.68±1.49*	50.44±0.88*	3.02±0.11	28.51±0.45	1.47±0.05

种类	质量分数/(mg·g ⁻¹)								
	异亮氨酸	亮氨酸	酪氨酸	苯丙氨酸	赖氨酸	组氨酸	精氨酸	脯氨酸	总量
花鹿茸	10.58±0.02	42.18±0.14	10.70±0.02	23.39±0.09	34.01±0.07	16.09±0.07	38.71±0.12	47.03±0.13	527.74±1.27
马鹿茸	13.13±0.20*	41.87±0.70	11.23±0.18	23.28±0.35	35.94±0.51	14.12±0.22	46.47±0.71*	59.66±0.83*	594.84±9.31*

氨酸, 占 17 种氨基酸总量的 13%~16%; 其次为谷氨酸, 占 17 种氨基酸总量的 11%~13%, 含量较低的有蛋氨酸、半胱氨酸。17 种氨基酸中有 8 种氨基酸(天冬氨酸、苏氨酸、丝氨酸、丙氨酸、亮氨酸、酪氨酸、赖氨酸、脯氨酸)在不同鹿源鹿茸的含量均呈现出马鹿茸>花鹿茸的规律。

3.6 脂肪酸的测定

脂肪酸是一类含有一个羧基的脂肪族有机物, 是机体主要能量来源之一。侯召华等^[29]检测到冻干茸、煮炸茸中分别含有 16、13 种脂肪酸, 且冻干茸中脂肪酸含量是煮炸茸的 3.06 倍。本实验采用 GC-

MS 对不同鹿源鹿茸中 37 种脂肪酸含量进行测定, 结果见表 4。花鹿茸、马鹿茸中脂肪酸质量分数分别为(13 279.72±471.70)、(9 202.24±691.16) mg/kg, 大小顺序为花鹿茸>马鹿茸, 差异显著($P<0.05$)。花鹿茸、马鹿茸均检测到 26 种脂肪酸。马鹿茸各类脂肪酸中, C16:0 含量最高, 约占 37 种脂肪酸总量的 28%, 花鹿茸中 C18:0 含量最高, 约占 37 种脂肪酸总量的 25%。马鹿茸 C22:6、cis-4,7,10,13,16,19 含量显著高于花鹿茸, 是花鹿茸含量的 2.49 倍。花鹿茸中 C20:5、cis-5,8,11,14,17 含量显著高于马鹿茸, 是马鹿茸含量的 22.31 倍。

表 4 花鹿茸和马鹿茸脂肪酸质量分数 ($\bar{x} \pm s, n=5$)

Table 4 Fatty acid content of *C. nippon* and *C. elaphus* ($\bar{x} \pm s, n=5$)

种类	质量分数/(mg·kg ⁻¹)							
	C4:0	C6:0	C8:0	C10:0	C11:0	C12:0	C13:0	C14:0
花鹿茸	21.75±0.21	—	—	—	—	—	—	123.66±5.91
马鹿茸	13.45±0.70*	—	—	—	—	—	—	129.77±11.14
种类	质量分数/(mg·kg ⁻¹)							
	C14:1,cis-9	C15:0	C15:1,cis-10	C16:0	C16:1,cis-9	C17:0	C17:1,cis-10	C18:0
花鹿茸	—	117.93±3.91	—	2 955.45±57.63	169.60±6.32	214.30±4.03	46.95±1.55	3 284.55±96.24
马鹿茸	—	125.20±9.74	—	2 486.70±151.04*	219.53±15.52*	119.40±10.97*	50.40±2.46*	1 890.90±150.76*
种类	质量分数/(mg·kg ⁻¹)							
	C18:1,trans-9	C18:1,cis-9	C18:2,trans-9,12	C18:2,cis-9,12	C18:3,cis-6,9,12	C18:3,cis-9,12,15	C20:0	C20:1,cis-11
花鹿茸	—	3 062.80±175.65	—	1 215.85±11.38	8.56±0.06	123.55±4.53	80.59±7.86	70.97±1.15
马鹿茸	—	2 037.25±170.20*	—	623.77±52.16*	4.48±0.25*	99.31±7.51*	52.56±4.37*	34.20±3.06
种类	质量分数/(mg·kg ⁻¹)							
	C20:2,cis-11,14	C21:0	C20:3,cis-8,11,14	C20:4,cis-5,8,11,14	C20:3,cis-11,14,17	C20:5,cis-5,8,11,14,17	C22:0	
花鹿茸	134.12±12.28	8.19±0.64	57.45±4.53	765.99±18.38	8.75±0.64	164.85±11.65	161.93±12.30	
马鹿茸	63.31±5.25*	7.61±0.73	71.36±5.30*	504.05±40.18*	5.02±0.35*	154.34±9.53	107.90±8.92*	
种类	质量分数/(mg·kg ⁻¹)							
	C22:1,cis-13	C22:2,cis-13,16	C23:0	C24:0	C22:6,cis-4,7,10,13,16,19	C24:1,cis-15	总量	
花鹿茸	41.72±2.37	—	49.96±3.26	224.29±17.37	15.94±0.21	150.05±11.65	13 279.72±471.70	
马鹿茸	19.11±1.89*	—	30.24±1.94*	200.31±13.66	50.71±4.80*	101.39±8.73*	9 202.24±691.16*	

3.7 矿质元素的测定

矿质元素是膳食中六大营养素之一, 在鹿茸中含量较高。本实验采用电感耦合等离子体质谱仪、紫外分光光度计、原子吸收光谱仪对不同鹿源鹿茸中 16 种矿质元素进行测定, 结果见表 5。花鹿茸、马鹿茸中 16 种矿质元素总量分别为(138.36±0.45)、(82.62±0.43) mg/g, 大小顺序为花鹿茸>马鹿茸, 差异显著($P<0.05$)。在 2 种鹿茸 5 种常

量元素中, Ca、P 含量均为最高, Mg 含量最低。在 2 种鹿茸 7 种微量元素中, Fe 含量最高, 占 7 种微量元素总量的 80%以上, 其次为 Zn, 含量最低为 Co。在不同鹿源鹿茸 4 种有害元素中 Pb 含量最高, 占 4 种有害元素总量的 85%以上。

3.8 生物胺的测定

生物胺广泛存在于生物体内, 是一类具有生物活性、含氨基的低相对分子质量的化合物。王燕华

等^[22]研究表明鹿茸生物胺质量分数在 55.67~357.07 mg/kg, 且不同加工方式鹿茸之间含量有差异。本实验采用 UPLC 法测定了不同鹿源鹿茸中 10 种生物胺含量, 结果见表 6。花鹿茸、马鹿茸中 10 种生物胺总量分别为(70.75±1.80)、(136.02±5.45) mg/kg, 大小顺序为马鹿茸>花鹿茸, 二者差异显著 ($P<0.05$)。2 种鹿茸中所含生物胺种类相同,

均检测到 9 种生物胺, 其质量分数在 0.10~84.13 mg/kg, 尸胺均未检出。花鹿茸中腐胺含量最高, 约占生物胺总量的 65%; 组胺、亚精胺和精胺含量也较高, 分别约占生物胺总量的 13%、5%、3%。马鹿茸中亚精胺含量最高, 约占生物胺总量的 60%; 腐胺、精胺和组胺含量也较高, 分别占生物胺总量的 23%、8%、3%。

表 5 花鹿茸和马鹿茸矿质元素质量分数 ($\bar{x} \pm s, n = 5$)Table 5 Mineral elements content of *C. nippon* and *C. elaphus* ($\bar{x} \pm s, n = 5$)

种类	常量元素质量分数/(mg·g ⁻¹)					微量元素质量分数/(mg·kg ⁻¹)		
	K	Ca	Na	Mg	P	Cu	Zn	Fe
花鹿茸	4.07±0.01	56.13±0.32	8.27±0.01	3.40±0.01	65.91±0.15	6.30±0.07	60.83±0.13	511.78±10.17
马鹿茸	3.11±0.08*	29.96±0.16*	4.96±0.05*	2.21±0.03*	41.47±0.09*	4.98±0.07*	67.81±1.55*	790.04±10.92*
种类	微量元素质量分数/(mg·kg ⁻¹)				有害元素质量分数/(mg·kg ⁻¹)			
	Mn	Cr	Ni	Co	Pb	Cd	Hg	As
花鹿茸	0.99±0.01	1.44±0.03	4.03±0.03	0.22±0.01	487.81±5.81	8.36±0.47	3.05±0.18	42.40±0.28
马鹿茸	5.08±0.02*	16.97±0.09*	7.72±0.01*	0.25±0.01	316.86±0.14*	10.15±0.52	6.21±0.11*	32.48±0.01*

表 6 花鹿茸和马鹿茸生物胺质量分数 ($\bar{x} \pm s, n = 5$)Table 6 Biogenic amine content of *C. nippon* and *C. elaphus* ($\bar{x} \pm s, n = 5$)

种类	质量分数/(mg·kg ⁻¹)										
	色胺	2-苯乙胺	腐胺	尸胺	组胺	5-羟色胺	酪胺	亚精胺	多巴胺	精胺	总量
花鹿茸	2.59±0.07	3.20±0.31	47.13±0.34	-	9.71±0.67	0.22±0.02	0.47±0.02	4.02±0.01	0.67±0.07	2.74±0.29	70.75±1.80
马鹿茸	0.90±0.44*	1.31±0.11*	31.82±0.35*	-	4.82±1.42*	0.27±0.01*	0.10±0.01*	84.13±2.58*	0.48±0.02*	12.19±0.51*	136.02±5.45*

3.9 核苷的测定

刘雪莹等^[30]测定了花鹿茸和马鹿茸中 5 种核苷含量, 总量在 1.62~2.53 mg/g, 且花鹿茸和马鹿茸之间具有差异。本实验采用 UPLC 法测定不同鹿源鹿茸中的 13 种核苷含量, 结果见表 7。花鹿茸、马鹿茸中 13 种核苷总量分别为 (2 507.82±175.84)、(1 222.78±7.42) mg/kg, 大小顺序为花鹿茸>马鹿

茸, 差异显著 ($P<0.05$)。2 种鹿茸中核苷种类相同, 均含有 13 种核苷, 其质量分数在 8.15~622.40 mg/kg。花鹿茸中次黄嘌呤含量最高, 约占 13 种核苷总量的 25%, 2'-脱氧鸟苷含量最低。花鹿茸中黄嘌呤和尿苷含量与马鹿茸相比差异显著 ($P<0.05$), 是马鹿茸的 29.51 倍和 0.46 倍。马鹿茸中尿苷含量最高, 约占 13 种核苷总量的 25%, 胞嘧啶含量最

表 7 花鹿茸和马鹿茸核苷含量 ($\bar{x} \pm s, n = 5$)Table 7 Nucleoside content of *C. nippon* and *C. elaphus* ($\bar{x} \pm s, n = 5$)

种类	质量分数/(mg·kg ⁻¹)						
	胞嘧啶	尿嘧啶	鸟嘌呤	腺嘌呤	次黄嘌呤	黄嘌呤	尿苷
花鹿茸	8.15±0.84	609.49±22.42	369.32±32.15	20.05±1.13	622.40±8.49	461.49±8.29	138.79±65.35
马鹿茸	9.70±0.71	26.19±0.53*	267.41±0.36	13.55±0.12	237.50±0.14*	15.64±0.32*	300.28±1.14*
种类	质量分数/(mg·kg ⁻¹)						
	胸腺嘧啶	肌苷	鸟苷	腺苷	2'-脱氧鸟苷	β-胸苷	总量
花鹿茸	64.25±2.15	59.15±5.79	74.12±9.14	31.89±7.28	8.07±1.19	40.65±11.62	2 507.82±175.84
马鹿茸	13.92±1.20*	74.03±0.46	161.18±0.74*	12.64±0.95	61.75±0.58*	28.99±0.19	1 222.78±7.42*

低。马鹿茸中尿嘧啶和 2'-脱氧鸟苷含量与花鹿茸相比差异显著, 分别是花鹿茸的 0.04 倍和 7.65 倍。

3.10 PCA

PCA 在进行多指标综合评价时有广泛的应用, 王颖颖等^[31]和刘盼盼等^[32]分别对芝麻酱 14 个理化指标和功夫红茶 4 类化学成分进行了 PCA。陶晓赛等^[33]用 PCA 法对盾叶薯蓣中 31 个色谱峰进行赋分以综合评价各产地盾叶薯蓣的整体质量。结果表明 PCA 是进行多成分质量评价最经典的方法之一。用 SPSS 24 软件对花鹿茸和马鹿茸的多糖、粗蛋白、氨基酸、胶原蛋白、脂肪酸、矿质元素、生物胺、核苷、硫酸软骨素 9 类成分含量进行 PCA。结果表明, PCA 后提取了 1 个主成分且累计方差贡献率为 100%。根据各主成分特征值及特征向量, 计算主成分得分和综合得分, 能够对不同鹿源鹿茸质量作出综合评价。花鹿茸和马鹿茸综合得分分别为 0.71、-0.71, 花鹿茸得分高于马鹿茸, 说明以多糖、粗蛋白、氨基酸、胶原蛋白、脂肪酸、矿质元素、生物胺、核苷、硫酸软骨素 9 类成分含量为 PCA 指标时, 花鹿茸品质高于马鹿茸。

3.11 判别分析

判别分析又称“分辨法”, 是在分类确定的条件下, 根据某一研究对象的各种特征值判别其类型归属问题的一种多变量统计分析方法。通过判别分析找出影响样本归类的关键因素, 获得判定系数, 然后依据判定系数, 能对未来样本进行判别。为了解花鹿茸和马鹿茸在化学成分方面的差异并进一步探讨其分类方法, 本实验分别以 9 类化学成分总量、17 种氨基酸、37 种脂肪酸、16 种矿质元素、10 种生物胺、13 种核苷含量为变量进行判别分析, 试图寻找简单有效的以化学成分为指标区分花鹿茸和马鹿茸的方法。

以多糖、粗蛋白、氨基酸、胶原蛋白、脂肪酸、矿质元素、生物胺、核苷、硫酸软骨素含量为变量采取逐步判别分析方法, Wilks' Lambda 作为评价指标, 使用默认 f 值逐步筛选变量, 最终选定矿质元素 1 个变量, 以 Fisher 方法建立判别函数, 得到判别函数为 $F=2.281 X-252.053$ ($F>0$ 判为 1 类, $F<0$ 判为 2 类), 函数在 Wilks' Lambda 检验中 P 值均小于 0.05, 具有统计学意义。采用交互验证法验证判别结果, 其正判率为 100%, 可见所建模型具有很好的判别效果, 说明在本实验中以多糖、粗蛋白、氨基酸、胶原蛋白、脂肪酸、矿质元素、生

物胺、核苷、硫酸软骨素 9 类化学成分含量为变量建立判别函数能区分花鹿茸和马鹿茸。

以花鹿茸和马鹿茸中 17 种氨基酸质量分数为变量采取上述分析方法筛选变量, 最终选定丝氨酸、丙氨酸 (分别定义为 X_1 、 X_2) 2 个变量, 得到判别函数为 $F=365.532 X_1-174.807 X_2-73.028$ ($F>0$ 判为 1 类, $F<0$ 判为 2 类)。采用交互验证法验证判别结果, 其正判率为 100%。说明在本实验中以 17 种氨基酸为变量进行判别分析可区分花鹿茸和马鹿茸。

以花鹿茸和马鹿茸中 37 种脂肪酸质量分数为变量采取上述分析方法筛选变量, 最终选定 c18:3c-6,9,12、c22:6 (分别定义为 X_3 、 X_4) 2 个变量, 得到判别函数为 $F=29.507 X_3-1.535 X_4-141.279$ ($F<0$ 判为 1 类, $F>0$ 判为 2 类)。采用交互验证法验证判别结果, 其正判率为 100%。说明在本实验中以 37 种脂肪酸含量为变量进行判别分析可区分花鹿茸和马鹿茸。

以花鹿茸和马鹿茸中 16 种矿质元素质量分数为变量采取上述分析方法筛选变量, 最终选定 Fe、Mn (分别定义为 X_5 、 X_6) 2 个变量, 得到判别函数为 $F=-2.666 X_5+1 990.480 X_6-4 305.6$ ($F>0$ 判为 1 类, $F<0$ 判为 2 类)。采用交互验证法验证判别结果, 其正判率为 0%。结果表明在本实验中以 16 种矿质元素为变量进行判别分析无法区分花鹿茸和马鹿茸。

以花鹿茸和马鹿茸中 10 种生物胺质量分数为变量采取上述分析方法筛选变量, 最终选定色胺、腐胺、精胺 (分别定义为 X_7 、 X_8 、 X_9) 3 个变量, 得到判别函数为 $F=24.295 X_7+49.838 X_8-53.445 X_9-1 610.69$ ($F>0$ 判为 1 类, $F<0$ 判为 2 类)。采用交互验证法验证判别结果, 其正判率为 100%。说明在本实验中以 10 种生物胺为变量进行判别分析可区分花鹿茸和马鹿茸。

以花鹿茸和马鹿茸中 13 种核苷质量分数为变量采取上述分析方法筛选变量, 最终选定次黄嘌呤、黄嘌呤 (分别定义为 X_{10} 、 X_{11}) 2 个变量, 得到判别函数为 $F=4.103 X_{10}-4.198 X_{11}-2 420.47$ ($F>0$ 判为 1 类, $F<0$ 判为 2 类)。采用交互验证法验证判别结果, 其正判率为 100%。说明在本实验中以 13 种核苷含量为变量进行判别分析可区分花鹿茸和马鹿茸。

综上所述, 分别以 9 类化学成分总量、17 种氨

基酸、37 种脂肪酸、10 种生物胺、13 种核苷为变量通过判别分析建立的判别函数可将花鹿茸和马鹿茸进行分类, 正判率为 100%。

4 讨论

目前, 在我国鹿茸产业中仍缺乏系统的鹿茸质量评价方法, 鹿茸中的特异性成分和有效成分尚不明确。在作者所测定的 9 类成分中, 有些成分含量并不是越多越好, 如矿质元素含量越高表明鹿茸的骨化程度越高, 过量的生物胺表明有大量的氨基酸脱羧分解。因此在评价鹿茸质量时不能只采用单一成分, 应建立一种多成分的质量评价方法, 可有效避免单一成分的片面性。本研究首次系统地比较了花鹿茸、马鹿茸中糖类(多糖和单糖)、粗蛋白、17 种氨基酸、胶原蛋白、37 种脂肪酸、16 种矿质元素、10 种生物胺、13 种核苷、硫酸软骨素含量的差异, 能较为全面的从化学成分方面比较花鹿茸和马鹿茸的差异。

不同鹿源鹿茸原药材性状特征明显, 容易区分, 然而加工成饮片或者粉碎后, 用于鉴别的分支形态、表面纹理等基本特征全部消失, 因此急需建立简便、可靠的基原鉴别方法。本实验分别以 9 类化学成分总量、17 种氨基酸、37 种脂肪酸、10 种生物胺、13 种核苷化学成分含量为变量建立的判别函数能区分花鹿茸和马鹿茸, 说明以化学成分为变量区分花鹿茸和马鹿茸具有一定的可行性, 该研究为开发基于化学成分的不同鹿源鹿茸鉴别方法提供参考。

利益冲突 所有作者均声明不存在利益冲突

参考文献

- [1] 中国药典 [S]. 一部. 2020: 336.
- [2] Sui Z G, Zhang L H, Huo Y S, et al. Bioactive components of velvet antlers and their pharmacological properties [J]. *J Pharm Biomed Anal*, 2014, 87: 229-240.
- [3] 郭晓晗, 程显隆, 李明华, 等. 鹿茸的化学成分及质量控制方法研究进展 [J]. *药物分析杂志*, 2018, 38(4): 551-565.
- [4] NY/T 1162-2006 鹿茸片 [S]. 2006.
- [5] DB22/T 1143-2009 地理标志产品 吉林梅花鹿鹿茸、鹿鞭、鹿尾、鹿血、鹿胎膏、鹿筋、鹿脱盘 [S]. 2009.
- [6] DB21/T 1796-2010 地理标志产品 西丰鹿茸 [S]. 2010.
- [7] 陆城宇, 李俊松, 狄留庆, 等. 不同产地桑叶氨基酸、核苷、生物碱成分的含量测定及多元统计分析 [J]. *中国现代应用药学*, 2020, 37(9): 1052-1057.
- [8] 叶协锋, 魏跃伟, 杨宇熙, 等. 基于主成分分析和聚类分析的烤烟质量评价模型构建 [J]. *农业系统科学与综*

合研究, 2009, 25(3): 268-271.

- [9] 陈和明, 吕复兵, 李佐, 等. 蝴蝶兰品质性状综合评价体系的构建 [J]. *中国农业大学学报*, 2017, 22(8): 83-94.
- [10] 孙伟杰, 王铭, 杨洋, 等. 基于化学指纹图谱和多指标成分含量测定的梅花鹿鹿茸质量评价 [J]. *中华中医药学刊*, 2020, 38(3): 188-192.
- [11] 王任晶. 基于多成分分析梅花鹿饮片质量标准的研究 [D]. 长春: 长春中医药大学, 2020.
- [12] 刘雪莹. 不同规格鹿茸饮片质量分析研究 [D]. 长春: 长春中医药大学, 2019.
- [13] 何慧楠. 鹿茸药材质量评价研究 [D]. 长春: 长春中医药大学, 2019.
- [14] 魏越. 不同规格、等级鹿茸商品药材质量评价研究 [D]. 沈阳: 辽宁中医药大学, 2018.
- [15] 刘威, 龚伟, 张嵩, 等. 基于多元统计分析的鹿茸品质评价 [J]. *中国实验方剂学杂志*, 2018, 24(14): 57-62.
- [16] 雒伟伟, 赵海平, 齐晓妍, 等. 鹿茸药材鉴定和质量控制的研究进展 [J]. *中国中药杂志*, 2017, 42(21): 4110-4114.
- [17] 宫瑞泽, 王燕华, 祁玉丽, 等. 不同加工方式对鹿茸中水溶性多糖含量及单糖组成的影响 [J]. *色谱*, 2019, 37(2): 194-200.
- [18] 王燕华, 张秀莲, 赵卉, 等. 不同加工方式对鹿茸中粗蛋白与水解氨基酸量的影响研究 [J]. *中草药*, 2017, 48(15): 3085-3091.
- [19] 宫瑞泽, 赵卉, 曲迪, 等. 不同产地加工及炮制方法对鹿茸中胶原蛋白含量的影响 [J]. *食品科学*, 2019, 40(22): 1-6.
- [20] 刘松鑫, 宫瑞泽, 王泽帅, 等. 不同形态梅花鹿鹿茸的化学成分对比研究 [J]. *中草药*, 2020, 51(1): 67-75.
- [21] 王燕华, 姜英, 孙印石, 等. 不同加工方式的鹿茸无机元素含量的比较 [J]. *药物分析杂志*, 2018, 38(1): 104-111.
- [22] 王燕华, 孙印石, 王玉方, 等. UPLC 法测定不同加工方式鹿茸中的生物胺成分 [J]. *分析测试学报*, 2018, 37(9): 995-1001.
- [23] 孙印石, 王燕华, 王玉方, 等. UPLC 法测定不同加工方式梅花鹿鹿茸中的核苷类成分 [J]. *中草药*, 2018, 49(4): 840-846.
- [24] 邓浩, 刘影, 于金玲, 等. 复方鹿茸多糖增强小鼠免疫力的实验研究 [J]. *食品安全导刊*, 2014(23): 72-76.
- [25] 赵玉红, 金秀明, 韩睿. 鹿茸多糖分离纯化及抗氧化活性研究 [J]. *食品工业科技*, 2012, 33(12): 155-158.
- [26] 龚伟, 郑洪新, 杨鹤祥, 等. 鹿茸不同组分对去卵巢骨质疏松症大鼠骨组织的作用及其机制 [J]. *中国实验方剂学杂志*, 2019, 25(20): 36-42.
- [27] 宫瑞泽, 王燕华, 孙印石. 不同加工方式及不同部位鹿

- 茸中硫酸软骨素的含量分析 [J]. 中国中药杂志, 2018, 43(3): 557-562.
- [28] 赵磊, 李继海, 朱大洲, 等. 5 种鹿茸营养成分的主成分分析 [J]. 光谱学与光谱分析, 2010, 30(9): 2571-2575.
- [29] 侯召华, 刘畅, 任贵兴. 煮炸和冷冻干燥对鹿茸中脂溶性成分及色差的影响 [J]. 现代食品科技, 2017, 33(10): 164-170.
- [30] 刘雪莹, 刘雨霏, 陈昊媛, 等. 梅花鹿鹿茸和马鹿鹿茸中5种核苷类成分的含量比较 [J]. 中国现代应用药学, 2018, 35(11): 1675-1679.
- [31] 王颖颖, 侯利霞, 胡爱鹏, 等. 主成分分析法评价市售芝麻酱产品品质 [J]. 食品科学, 2017, 38(6): 310-314.
- [32] 刘盼盼, 郑鹏程, 龚自明, 等. 工夫红茶品质分析与综合评价 [J/OL]. 食品科学, 2020-08-31. <http://kns.cnki.net/kcms/detail/11.2206.TS.20200831.0946.016.html>.
- [33] 陶晓赛, 龚海燕, 谢彩侠, 等. 基于 UPLC 指纹图谱结合化学计量学评价不同产地盾叶薯蓣药材质量 [J/OL]. 中草药, 2020-09-21. <http://kns.cnki.net/kcms/detail/12.1108.R.20200921.1444.002.html>.

[责任编辑 郑礼胜]